Aus dem LXIV. Bande der Sitzb. der k. Akad. der Wissensch. I. Abth. Juli-Heft. Jahrg. 1871.

Zur Statik des Glycogens im Thierkörper

Von **Sigmund Weiss**, stud. med.

(Aus dem physiologischen Institute der Wiener Universität.)

(Vorgelegt in der Sitzung am 20. Juli 1871.)

Nachdem in einer Reihe von Arbeiten aus den letzten Jahren nachgewiesen wurde, dass die Eiweisskörper sich nicht direct, durch Zersetzung bei der Thätigkeit des Muskels betheiligen, musste die Frage nach den chemischen Vorgängen im thätigen Muskel von neuem in der Physiologie auftauchen und einer neuen Lösung entgegensehen. Es lag nahe, die Aufmerksamkeit jetzt mehr den einzelnen stickstofffreien Bestandtheilen des Muskels zuzuwenden, und zu untersuchen, in wie weit diese mit der Muskelarbeit in näherem Zusammenhange stehen.

Diese Arbeit unternahm O. Nasse („Beiträge zur Physiologie der contractilen Substanz". Pflüger's Archiv II. Jahrg. p. 97—121) und er kam in Folge seiner diesbezüglichen Untersuchungen und Experimente zu folgenden Resultaten:

1. Das Glycogen ist ein normaler Bestandtheil des Muskels, nicht nur des embryonalen, sondern auch in erwachsenen Thieren.
2. Die Erstarrung und die Thätigkeit des Muskels ist mit einem Verbrauche von Kohlenhydraten (Glycogen und Zucker) verbunden.

Das Glycogen konnte Nasse in seinen Versuchen nicht direct bestimmen, da zur Zeit, in welcher er seine Versuche anstellte, noch keine Methode bekannt war, die eine directe quantitative Bestimmung des Glycogens zuliess, und er sich offenbar, und auch aus guten Gründen, der Pavy'schen Methode nicht anvertrauen wollte.

Er bestimmte es daher indirect, als Zucker, und zwar auf folgende Weise:

Die mit einer gewogenen Menge Sand zerriebene und mit Wasser verdünnte Muskelmasse lässt er einige Zeit bei niederer Temperatur stehen, um den Übergang des Glycogens aus vielleicht noch unzerriebenen Muskelfasern vollkommen zu machen, versetzt sie hierauf mit einem zuckerbildenden Ferment, zumeist filtrirtem Speichel, und digerirt mit diesem unter häufigem Umrühren einige Stunden lang bei angemessener Temperatur.

Wenn nach der auf die Digestion verwandten Zeit alles Glycogen als in Zucker umgewandelt angesehen werden kann, erhitzt er die Masse im Wasserbade auf 100° C. zur Ausfällung der Eiweisskörper, wägt nach dem Abkühlen und titrirt nun die Zuckermenge mit einer verdünnten Lösung von Kupfervitriol unter Zusatz von Kalilauge.

Von etwa vorgebildetem Zucker sah er ab, da nach ihm der von Meissner in den Muskeln entdeckte gährungsfähige Zucker Zersetzungsproduct des Glycogens ist.

Dies Nasse's Methode der Glycogenbestimmung.

Da es nun von Interesse war, zu untersuchen, welche Resultate sich bei einer directen Bestimmung des Glycogens ergeben würden, unternahm ich eine Reihe von Versuchen, deren Art und Ausführung ich hier folgen lasse:

Ein Frosch wurde decapitirt; seine Schenkelnerven in ihrem Verlaufe in der Beckenhöhle blossgelegt. Die Nerven der einen Seite wurden in diesem Verlaufe herausgeschnitten, während die der anderen über zwei Drähte gespannt wurden, welche die Enden der secundären Spirale eines Du-Bois'schen Schlittenapparates darstellten.

Auf diese Weise wurde der betreffende Schenkel (zuerst mit schwachen, endlich mit immer stärkeren Strömen) bis zur vollkommenen Erschöpfung der Muskeln tetanisirt. Jedes Zucken der Muskeln der andern Seite, das etwa durch Stromschleifen hätte entstehen können, wurde sorgfältig vermieden. Diese Procedur wurde bei allen Versuchsfröschen gleichmässig vorgenommen, doch so, dass der eine nicht eher in Angriff genommen ward, bis nicht sein Vorgänger in den bereitstehenden Gefässen (siehe weiter unten) untergebracht war. Ich muss noch erwähnen, dass ich nicht immer den Schenkel derselben Seite tetanisirte, sondern abwechselnd bald den der rechten, bald den der linken,

um etwaige Ungleichheiten zwischen rechten und linken Beinen möglichst auszuschliessen, so also, dass ich in meinem ersten (untenangeführten) Versuche drei tetanisirte Schenkel der rechten und eben so viele der linken Seite habe u. s. w. Es handelte sich nun darum, aus den Muskeln, den tetanisirten sowohl, als den nicht tetanisirten, das Glycogen zu bestimmen. Dies geschah nach der von Professor Brücke angegebenen Methode („Über eine neue Methode, Dextrin und Glycogen aus thierischen Flüssigkeiten und Geweben abzuscheiden und über einige damit erlangte Resultate". Sitzb. der k. Akad. der Wissensch. Bd. 63, Abth. II., p. 1—9), wie folgt: Waren die Muskeln des tetanisirten Beines vollkommen erschöpft, so wurden diese sowohl, als auch jene des nicht tetanisirten Beines in kleinen Portionen abgetragen, getrennt in siedendes Wasser geworfen, dem vorher etwas Kalilösung zugesetzt war, und damit vollständig zerkocht.

Die nun erhaltene Lösung wurde, nach dem Erkalten, mit Salzsäure und Jodquecksilberkalium, so lange noch ein Niederschlag entstand, gefällt, einige Zeit, 5 Minuten ungefähr, stehen gelassen und filtrirt. Der Niederschlag wurde mit Wasser, dem etwas Salzsäure und Jodquecksilberkalium zugesetzt war, so lange gewaschen, bis eine Probe des Filtrates mit Jodkalijodlösung keine rothe Farbe mehr gab. Nun vereinigte ich das Waschwasser mit dem ursprünglichen Filtrate, fällte mit starkem Alkohol (der unsere hat 95½ Volumprocente), indem ich auf 3 Theile Flüssigkeit ungefähr 4 Theile Alkohol rechnete, und liess das Glycogen sich absetzen. Hatte sich das Glycogen so weit abgesetzt, dass über ihm eine klare Schichte lagerte, so filtrirte ich. (Das Filtrat war häufig von tief rothbrauner Farbe und färbte Stärkekleister blau.)

Der Niederschlag, der aus Glycogen bestand, das noch mit den Reagentien verunreinigt war, und daher eben so häufig wie das Filtrat eine rothbraune oder rothe Farbe zeigte, wurde nun gewaschen, anfangs mit schwächerem Alkohol (60—61%) später mit stärkerem. Ich wusch so lange mit Alkohol, bis der abfliessende eine verdünnte Kalilösung, der etwas Ammoniak- oder Salmiaklösung zugesetzt war, nicht mehr trübte, und auch keine Chlorreaction mehr gab. War dieses geschehen, so wartete ich eine Zeit lang, bis der Alkohol vom Filter theils abgetropft, theils

verdunstet war. Hierauf löste ich den Niederschlag in einer flachen Porzellanschale in Wasser auf und brachte die nun erhaltene Lösung in ein Becherglas. Nun fällte ich das Glycogen aus dieser Lösung mit starkem Alkohol, dem ich vorher etwas Ammoniak zugesetzt hatte, liess absetzen und filtrirte.

Nach dieser Fällung ist das Glycogen bereits schön weiss, während es nach der ersten häufig, wie bereits oben bemerkt, schmutzig-gelb, rothbraun oder roth ist. Hatte ich den ganzen Niederschlag auf dem Filter, dann löste ich nach einiger Zeit wieder auf, filtrirte die Lösung, um Verunreinigungen zu entfernen, die beim wiederholten Fällen, Auflösen und Filtriren etwa hinzugekommen sein möchten, und fällte nun schliesslich mit starkem Weingeist, der vorher mit etwas Eisessig angesäuert wurde, liess absetzen, brachte den Niederschlag auf ein gewogenes Filter, trocknete und wog ihn. Prof. Brücke hat in der oben erwähnten Arbeit nachgewiesen, dass aus dem wiederholten Auflösen und Wiederfällen bei sorgfältigem Arbeiten kein Verlust entsteht. Mit der Stickstoffprobe von Pelouze ist in dem so dargestellten Glycogen kein Stickstoff nachweisbar.

Ich habe nach jedem Versuche nach dem Wägen eine Probe auf Stickstoff untersucht, doch solchen nie gefunden. Beim Verbrennen auf dem Platinblech bleiben stets Spuren anorganischer Salze, welche von der zum Zerkochen angewendeten Kalilösung herrühren. Wenn ich Leberglycogen (aus Hühnerlebern) so darstellte, dass ich die Leber blos in siedendem Wasser zerkochte, dann erhielt ich das Glycogen nicht nur stickstoff-, sondern auch aschefrei, wie es Prof. Brücke früher bei demselben Verfahren erhalten hatte.

Bevor ich jedoch daran ging, das Glycogen auf die geschilderte Weise zu bestimmen, musste ich mich überzeugen, ob die allgemeine Annahme : Das Glycogen werde durch Kochen mit Kalilauge nicht angegriffen, auch richtig ist. Einige quantitative Bestimmungen bestätigten diese Annahme.

Auch musste ich mich, ehe ich mit ammoniakalischem Alkohol fällte, überzeugen ob das Glycogen durch Stehen unter solchem, keine Veränderungen erleidet. Es ist dies nicht der Fall.

Ich gebe nun die Resultate meiner Experimente in beistehender Tabelle, in welcher Col. I die Zahl der Frösche, Col. II

die Menge des Glycogens der nicht tetanisirten Schenkel, Col. III die Menge des Glycogens der tetanisirten Schenkel, Col. IV den Glycogenverlust in Procenten auf die in Col. II angegebene Zahl bezogen, Col. V die Glycogenmenge in einem nicht tetanisirten Schenkel, Col. VI die Glycogenmenge in einem tetanisirten Schenkel, Col. VII endlich die Differenz zwischen Col. V und VI angibt.

I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.
6.	0·1413	0·107	24·27	0·02355	0·01783	0·00572
12.	0·262	0·188	28·24	0·02183	0·01566	0·00617
15.	0·117	0·059	50·427	0·00780	0·00393	0·00387

Man sieht, dass in den tetanisirten Schenkeln geringere Mengen von Glycogen sind, dass also thatsächlich die Muskelthätigkeit mit einem Verbrauche von Glycogen verbunden ist.

Dass die Zahlen beim dritten Versuche viel geringer sind als bei den beiden ersten, erklärt sich zum Theil daraus, dass die Frösche, die zu diesem Versuche verwendet wurden, kleiner und auch etwas länger in Gefangenschaft waren, als die der anderen, andererseits daraus, dass ich von diesen Fröschen nur die grösseren Muskeln verarbeitete, während ich von den, zu den beiden ersten Versuchen verwendeten Fröschen alle Muskeln der Extremität abtrug.

Da sich nun aus diesen Versuchen ein Verbrauch des Glycogens beim Tetanus ergab, war es mir interessant zu untersuchen, wie sich das Verhältniss beim Herzen gestaltet, einem Muskel, der in immerwährender Thätigkeit begriffen ist.

Ich entnahm daher einem, zu anderen Zwecken, mit Curare getödteten Hunde, der 3½ Stunden vorher mit Stärkekleister gefüttert war und vorher 40 Stunden lang gehungert hatte, möglichst kurze Zeit nach dessen Tödtung, das Herz, und des Vergleiches wegen, eine dem Herzen an Masse ungefähr gleiche Menge (ich habe sie, um der postmortalen Zersetzung des Glycogens keine Zeit zu gönnen, nicht gewogen) von Rückenmuskeln.

Dieser Versuch ergab einen Gehalt an Glycogen:

Im Herzen: 0·510

In den Rückenmuskeln: 0·7175

Im Herzen war also trotz seiner steten Thätigkeit eine Quantität Glycogen aufgespeichert, die noch mehr als $^2/_3$ von dem betrug, was in einer etwa gleich grossen Menge von Rückenmuskelfleisch gefunden wurde.

Wenn nun ein Verbrauch von Glycogen mit der Muskelthätigkeit verbunden ist — und die oben mitgetheilten Versuche sprechen entschieden dafür — so erscheint es schwer begreiflich, wie sich die Muskelthätigkeit bei mangelhafter Nahrung noch ziemlich lange erhält, wenn das Muskelglycogen bei wechselnder Nahrung ähnlich grossen und schnellen Schwankungen unterworfen ist, wie sie Pavy (Berichte über die Fortschritte der Anatomie und Physiologie im Jahre 1862 p. 308—318) und Tscherinoff („Über die Abhängigkeit des Glycogengehaltes der Leber von der Ernährung". Sitzb. der Wiener Akad. der Wissensch. 51. Bd. II. Abth. p. 412—419) für das Leberglycogen fanden.

Um zu untersuchen, wie sich das Muskelglycogen in dieser Beziehung verhält, unternahm ich eine zweite Reihe von Versuchen. Ich fütterte nämlich Hühner auf verschiedene Weise und bestimmte dann das relative Verhältniss des Leberglycogens zum Brustmuskelglycogen.

Die Hühner wurden, bevor sie der in Col. I untenstehender Tabelle angegebenen Diät unterworfen wurden, einige Tage lang mit Weizen gefüttert; hierauf bekamen sie erst eine gewisse Zeit hindurch das ihnen zugewiesene Nahrungsmaterial. Nach Verlauf der in Col. I angegebenen Zeit wurden sie durch Decapitation getödtet und während das Blut aus den durchschnittenen Gefässen abfloss, die Federn der Brustmuskelgegend (auf beiden Seiten) gerupft. Nun wurde der rechtsseitige Brustmuskel in flachen, dünnen Stücken schnell abgetragen und ganz so behandelt, wie ich es oben bei den Froschschenkeln geschildert.

Dann wurde der Brustkorb geöffnet, die Leber herauspräparirt und nach Entfernung der Gallenblase so behandelt wie der Muskel, mit dem Unterschiede jedoch, dass sie als Ganzes in das siedende Wasser (mit Kalilösung) eingetragen, und, nachdem sie eine Zeit lang gekocht, in einer Reibschale fein zerrieben, in die Flüssigkeit zurückgebracht und völlig zerkocht wurde.

Ich stelle nun die Resultate dieser Versuche in beifolgender Tabelle zusammen. Col. I gibt die Art und Dauer der Fütterung

an; Col. II Gewichtszu- oder Abnahme bei der Fütterung, Col. III zeigt den Glycogengehalt der Leber, Col. IV den Glycogengehalt des Brustmuskels, Col. V Gewicht des Brustmuskels der andern Seite, feucht gewogen, Col. VI den Glycogengehalt des Brustmuskels in Procenten, bezogen auf den Brustmuskel der andern Seite.

I.	II.	III.	IV.	V.	VI.
Weizen 5 Tage	+35	0·155	0·381	58·5	0·651
Hirsekörner u. Grünes 14 Tage[1]	—90	Spuren	0·0623	62·95	0·09895
Fibrin, Kochsalz u. Fett, 3 Tage	+43	0·0009	0·4165	47	0·886
Ebenso	+20	0·032	0·604	75	0·805
Gequolln. Reis u. Rohrzucker 3 Tage	—157	0·852	0·7625	66	1·1553
Ebenso[2]	—91	0·1556	0·328	56·14	0·5842
Ebenso	—46	2·132	0·474	68·22	0·6948

Fassen wir nun die Zahlensprache dieser Tabelle in Worte, so gibt sie uns als Antwort auf unsere oben gestellte Frage: Der Glycogengehalt des Muskels schwankt nicht so stark, wie der der Leber. Das Glycogen schwindet nicht so rasch, wie in der Leber, bei unzureichender Nahrung (Versuch 2) oder auch nur bei Mangel an Kohlehydraten (Versuch 3). In Versuch 3 zeigt sogar der Brustmuskel nach 3tägiger Entziehung aller Kohlehydrate, während fast alles Leberglycogen geschwunden ist, noch einen höheren Procentgehalt an Glycogen als in Versuch 7, in dem eine 2369mal grössere Menge von Leberglycogen gefunden wurde, und ähnlich verhält es sich mit Versuch 4.

Damit ist auch die Erklärung gegeben, warum bei mangelhafter Ernährung die Muskelthätigkeit noch anhält, wenn sich auch ihre Energie allmälig vermindert, und man sieht, dass der Gesammtvorrath an Glycogen, der sich im Organismus befindet, bei

---

[1] Dem, in Versuch 2 angeführten Huhne wurde sein Futter in zum guten Fortkommen ungenügender Menge verabreicht, als Abmagerungsfutter.

[2] Die Ziffer des Leberglycogens ist in diesem Versuche, im Vergleiche mit anderen bei analoger Fütterung von Pavy, Tscherinoff und mir erzielten, sehr klein; es bleibt ungewiss ob aus pathologischen Ursachen oder weil das Futter der letzten drei Tage, dessen Zubereitung ich in diesem Versuche nicht überwachen konnte, nicht die rechte Beschaffenheit hatte.

mangelhafter Zufuhr keineswegs so schnell erschöpft wird, wie man dies aus den früheren Versuchen glauben konnte.

Diese Tabelle lehrt uns aber noch eines, nämlich, dass der Glycogengehalt in den Muskeln doch immerhin ein sehr verschiedener, von der Ernährung abhängiger, ist; und daraus folgt, dass das relative Verhältniss der Muskelbestandtheile zu einander, von der Ernährungsweise abhängigen Veränderungen unterworfen ist, die bis jetzt nicht in Rechnung gezogen wurden.

Aus der k. k. Hof- und Staatsdruckerei in Wien.